

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

Applicant: Yu-Ting LIN, et al.) Group: Not yet assigned
))
)
 Serial No.: Not yet assigned))
) Examiner: Not yet assigned
) Filed: Concurrently herewith))
) Our Ref: B-5144 621063-7
)
) For: "BIOCHIP PREPARATION
))
) METHOD"
) Date: July 9, 2003

CLAIM TO PRIORITY UNDER 35 U.S.C. 119

Mail Stop Patent Application
 Commissioner for Patents
 P.O. Box 1450
 Alexandria, VA 22313-1450

Sir:

Applicants hereby make a right of priority claim under 35 U.S.C. 119 for the benefit of the filing date(s) of the following corresponding foreign application(s):

<u>COUNTRY</u>	<u>FILING DATE</u>	<u>SERIAL NUMBER</u>
Taiwan, R.O.C.	12 July 2002	91115598

A certified copy of each of the above-noted patent applications was filed with the Parent Application No. _____.

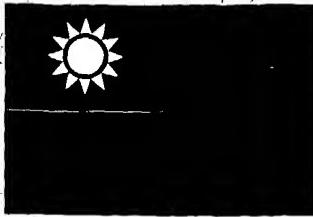
To support applicant's claim, a certified copy of the above-identified foreign patent application is enclosed herewith.

The priority document will be forwarded to the Patent Office when required or prior to issuance.

Respectfully submitted,

Richard P. Berg
 Attorney for Applicant
 Reg. No. 28,145

LADAS & PARRY
 5670 Wilshire Boulevard
 Suite 2100
 Los Angeles, CA 90036
 Telephone: (323) 934-2300
 Telefax: (323) 934-0202



EV257330101W

中華民國經濟部智慧財產局

INTELLECTUAL PROPERTY OFFICE
MINISTRY OF ECONOMIC AFFAIRS
REPUBLIC OF CHINA

茲證明所附文件，係本局存檔中原申請案的副本，正確無誤。

其申請資料如下：

This is to certify that annexed is a true copy from the records of this office of the application as originally filed which is identified hereunder:

申 請 日：西元 2002 年 07 月 12 日
Application Date

申 請 案 號：091115598
Application No.

申 請 人：明基電通股份有限公司
Applicant(s)

局 長

Director General

蔡 繼 生

發文日期：西元 2002 年 9 月 13 日
Issue Date

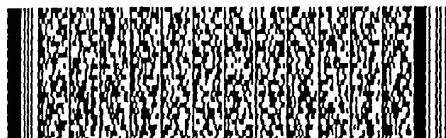
發文字號：09111017659
Serial No.

申請日期：	案號：	
類別：		
(以上各欄由本局填註)		
發明專利說明書		
一、 發明名稱	中文	一種生物晶片的製備方法
	英文	
二、 發明人	姓名 (中文)	1. 林郁庭 2. 沈昱璋 3. 余怡璇
	姓名 (英文)	1. Yu-Ting Lin 2. Yu-Chang Shen 3. In-Shan Sir
	國籍	1. 中華民國 2. 中華民國 3. 中華民國
	住、居所	1. 台北縣蘆洲市三民路577巷72號6樓 2. 台北市安和路一段78巷2號6樓 3. 高雄市三民區本和街153號4樓之二
三、 申請人	姓名 (名稱) (中文)	1. 明基電通股份有限公司
	姓名 (名稱) (英文)	1.
	國籍	1. 中華民國
	住、居所 (事務所)	1. 桃園縣龜山鄉山鶯路157號
	代表人 姓名 (中文)	1. 李焜耀
代表人 姓名 (英文)	1.	
		

四、中文發明摘要 (發明之名稱：一種生物晶片的製備方法)

本發明提供一種生物晶片之製備方法，包括下列步驟：以微注射方式將一疏水性物質噴灑於一基材上，於該基材表面形成一疏水性區，並由該疏水性區區隔出複數個小隔間；以及以微注射方式將一探針固定於該小隔間上。

英文發明摘要 (發明之名稱：)



本案已向

國(地區)申請專利

申請日期

案號

主張優先權

無

有關微生物已寄存於

寄存日期

寄存號碼

無

五、發明說明 (1)

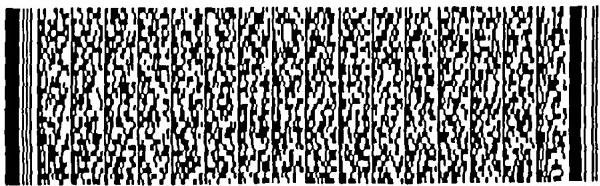
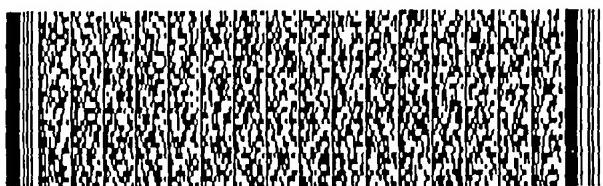
發明領域

本發明係有關於一種生物晶片之製備方法；特別是，係有關於採用微注射方式製造之生物晶片的製備方法。

發明背景

生物晶片是二十世紀末生物科技上一項突破性的發明，對於生物科技產業的發展可媲美當年亨利福特所組織的汽車生產線對汽車工業的大革命，或是類似半導體對於電腦工業的革命性發展。廣義來說，生物晶片是指在玻璃(glass)、矽片(silicon)、塑膠(plastic)或尼龍薄膜(nitrocellulose)等材質上，利用微電子、微機械、光電、自動化等工業技術來製成應用於生物化學分析的產品，其作用對象可以為基因、蛋白質或細胞組織等。生物晶片技術的主要特點是分析可信度及精確度高、分析速度快，所使用的樣品及試劑少，可同時處理大量樣品，並獲得整體性且平行化的實驗數據。

總體來說，生物晶片研究在國際上仍屬於初期發展階段，但已有許多重大成果。目前生物晶片的種類有微陣列(microarray)、DNA晶片(DNA chip)、蛋白質/抗體晶片(protein/antibody chip)、組織晶片(tissue chip)及實驗室晶片(lab-on-a-chip)等，其中以微陣列(microarray)及DNA晶片(DNA chip)發展較為成熟。而生物晶片的用途十分廣泛，包括基因定序、毒理學分析、疾病基因表現、單一核糖核酸多形性檢定、法醫學上的應

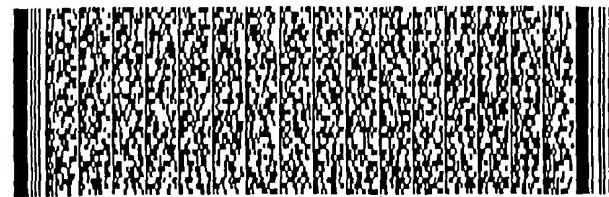
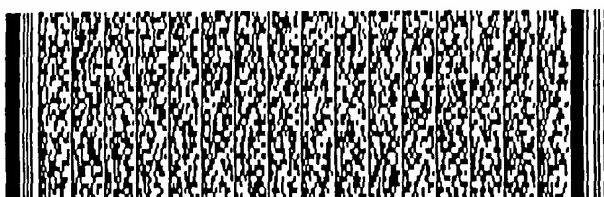


五、發明說明 (2)

用、藥物的篩選及生化武器的偵測等，由此可見生物晶片必定是未來產業界競相爭食的大餅。但是，如何掌握競爭優勢則取決於如何以較低成本製備出高密度的生物晶片。

生物晶片依探針(probe)製備的方式不同可分為三種，第一種是Affymetrix公司研發出的光蝕刻法(photolithography)與化學合成法相結合的光引導原位合成法(light-directed synthesis)。第二種是史丹福大學所使用的接觸式點樣法(pin)，係利用預先合成好的DNA、RNA或蛋白質以機器手臂快速、高密度地固定到基質上。第三種為微注射法(micro-injection method)，如Rosetta Inpharmatics公司利用微注射(micro-injection)方式去製備互補核苷酸。最後資料的判讀方式是將欲偵測的樣品與晶片進行雜交作用(hybridization)，之後再以樣品中標的物(target)上之標幟物(label)，例如螢光、放射物質或酵素呈色等方式進行電腦掃描以及資料分析。

目前製作生物晶片常見的方法可能是：(a) 利用微陣列點製機將合成的探針溶液藉由精密的定位機構佈植到晶片上，或是(b) 利用光學蝕刻的技術進行核苷酸光直接原位合成法(light-directed in-situ synthesis)。其中，點製機中輸送探針溶液的機械結構可分為接觸式的針頭(pin)與非接觸式的微注射器(micro-injector)。接觸式的針頭(pin)成本低，但液滴較大，陣列密度較低(每一點約150~200 μm)，且易破壞晶片表面；而非接

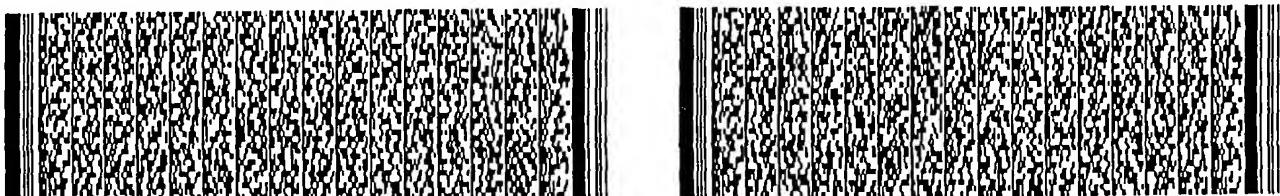


五、發明說明 (3)

觸式的微注射器(micro-injector)不會破壞晶片表面，液滴較小，陣列密度較高(每一點約 $50\sim150\text{ }\mu\text{m}$)。

例如，以源自光學蝕刻的技術在玻璃表面進行光直接原位DNA合成法的方式，可以在面積 1.6 cm^2 的玻璃製備種類多達40萬種核酸探針的高密度微陣列。雖然是目前最領先的技術，但受限於光化學反應良率依核酸探針長度增加而遞減的速度太快且光罩成本昂貴，所以未能普及。因此，目前常用的方法為點針式(pin)及微注射法(micro-injection method)，其中微注射法又分為壓電式微注射法及熱氣泡式微注射法。例如Protogene公司利用壓電式微注射技術(piezo micro-injection, U. S. Pat. No. 5985551; 6,177,558 B1)在晶片表面進行DNA原位合成 (DNA *in-situ* synthesis) ，成本較低，但密度僅約為 $10\sim10^4\text{ spots/cm}^2$ 。

上述所提的不論是光蝕刻法、點針法或壓電法都有其缺點，因此就生物晶片的製備而言，如何製備出品質好、解析度夠及價格便宜的生物晶片將是主要的致勝因素。以微注射方式製備生物晶片需注意探針液滴彼此間的污染。為了克服污染問題，美國專利第5,552,270號已揭露用聚丙烯醯胺膠體(polyacrylamide)做成許多小隔間，其膠體的厚度為 $30\text{ }\mu\text{m}$ ，可防止探針溶液的相互污染，且可增加探針溶液固定的量，但是缺點是製程麻煩、花費高且因水分易蒸發所以需儲存在非揮發性的油中，因此，使用之前



五、發明說明 (4)

需再以氯仿(chloroform)或酒精(ethanol)洗淨，整體而言使用並不方便。另外，也可以利用半導體蝕刻的方式在矽片(silicon)上蝕刻成許多小槽室來防止探針溶液間的污染，但是此法製程麻煩且花費高昂。上述習知技術之缺點即是本發明所欲解決的問題。

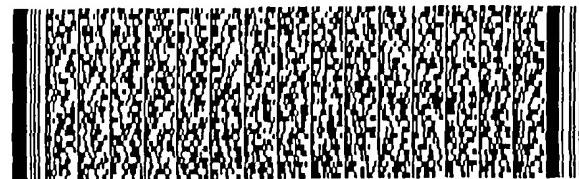
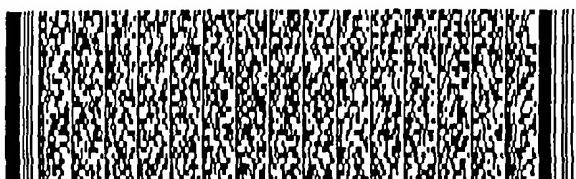
發明概述

本發明之目的係提供一種簡單且便宜之生物晶片製備方法，其包括下列步驟：以微注射方式將一疏水性物質噴灑於一基材上；於該基材表面形成一疏水性區，並由該疏水性區隔出複數個小隔間；以及以微注射方式將一探針固定於該小隔間上。本發明方法不但可防止探針液滴間彼此的干擾現象，又可增加探針密度及晶片的解析度。因此，本發明方法可製備出高密度、液滴小、解析力佳且成本低之生物晶片。

發明之詳細說明

本發明提供一種生物晶片之製備方法，首先以微注射方式將一疏水性物質噴灑於一基材上，於該基材表面形成一疏水性區，並由該疏水性物質區隔出複數個小隔間。接著，再以微注射方式將一探針固定於每一小隔間中。

通常可用來作為生物晶片基材的材料可以是疏水性基材或親水性基材。疏水性基材包括但不限於下列物質—玻璃、矽片、塑膠、尼龍膜、樹酯、石英、陶磁、以及金屬材質。親水性基材則多為聚合物，包括如聚苯乙烯



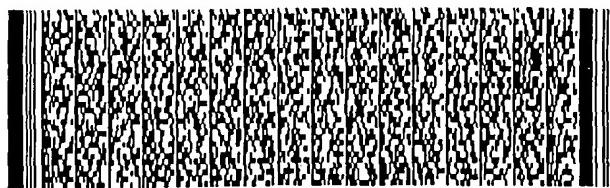
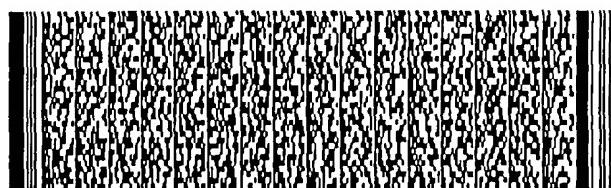
五、發明說明 (5)

(polystyrene)、聚酯(polyester)、聚碳酸鹽(polycarbonate)、聚氯化乙烯(polyvinylchloride)、聚乙稀(polyethylene)、聚丙烯(polypropylene)、聚砜(polysulfone)、聚氨基甲酸酯(polyurethane)或聚甲烯順丁烯二酸酐(PMMA)等材料，但不限於此處所列舉者。

若採用疏水性基材，則當噴灑完疏水性物質後，疏水性物質形成之疏水性區所區隔出的小隔間表面，必需先處理成具有親水性官能基才能與探針結合。此處所指的親水性官能基可以為胺基(-NH₂)、羧基(-COOH)、硫基(-SH)、環氧化基(epoxide)、醛基(aldehyde)或是鍊狀卵白素(Streptavidin)等。

若是採用親水性基材，則需先將表面處理成疏水性，然後才能噴灑疏水性物質，以形成疏水性區。之後，需再將小隔間處理成親水性，才能與探針結合。基材表面修飾方法可參考下述論文：Souther, Chem. abst. 113; 152979r(1990) and Anal. Biochem. 157; 283(1986)，在此不再贅述。

本發明之微注射方式係採用一微注射器(micro-injector)，以垂直、水平或任意方向，單向或雙向來回噴灑，如第1A圖及第1B圖所顯示。所採用的微注射器包含熱氣泡式微注射器以及壓電式微注射器。所採用的熱氣泡式微注射器包括：一槽室，用以放置液體；一微注射孔，位於槽室上，可使槽室中的液體流出；以及一第一加熱器與一第二加熱器，分別排列於該微注射孔的兩側。

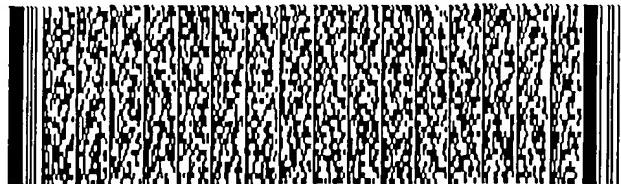
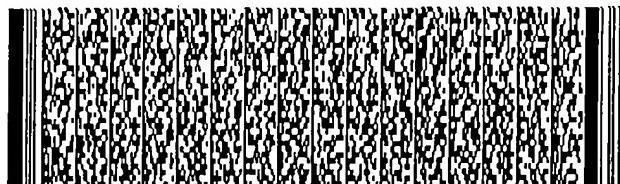


五、發明說明 (6)

當槽室裝滿液體時，第一加熱器會產生一第一氣泡，接著，第二加熱器會產生一第二氣泡，利用兩氣泡將液體切斷噴出，並且第一加熱器與第二加熱器係由一共同訊號所驅動。此外，第一氣泡之產生係作為一閥門，限制該槽室中的液體流出，後續會詳細說明。

本發明以微注射方式噴灑之疏水性物質包括，但不限於，聚四氟乙烯(Teflon)、聚醯亞胺(polyimide)、含矽及含氟潑水劑、以及含氟及含矽化合物等。當將疏水性物質噴灑至基材上後，疏水性物質會在基材表面形成疏水區，由疏水區區隔出複數個小隔間，小隔間可以為方形、圓形或任意幾何圖形，如第2A圖與第2B圖所示。小隔間大小範圍可以為 $20\sim200\text{ }\mu\text{m}$ ，疏水性物質的厚度範圍可以為 $1\sim30\text{ }\mu\text{m}$ ，寬度範圍可以為 $5\sim100\text{ }\mu\text{m}$ 。

如第3圖所示，欲固定於基材表面上的探針係以液滴的形式由微注射器噴灑出來，覆蓋在小隔間(親水性區)中。微注射器中裝有探針溶液，其探針溶液可以是去氧核糖核酸(DNA)、核糖核酸(RNA)、核苷酸(Nucleotides)、寡核苷酸(Oligonucleotides)、蛋白質(Protein)、抗體(Antibodies)或胜肽(Peptides)等，但不限於以上列舉者。上述探針固定於小隔間的方法係經由一官能基結合的方式達成，而官能基結合方式包括吸附(adsorption)法、共價結合法(covalent binding)、包覆法(encapsulation)、交聯法(cross-linking)及包埋法(entrapment)等，但不限於上述方法。通常探針溶液若為



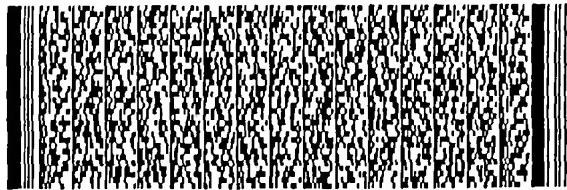
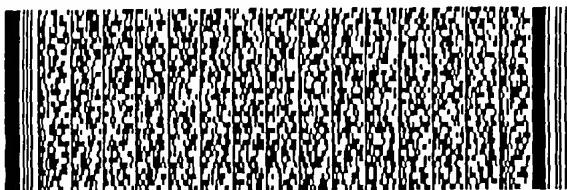
五、發明說明 (7)

DNA、RNA 或核苷酸時，必須先經過一些化學修飾使得其與基材表面上的官能基結合更緊密，例如修飾成磷酸鹽(phosphonate)、磷酸氫鹽(hydrogen phosphonate)、磷酸醯胺酸(phosphonamidite)、磷醯胺酸(phosphoramidite)、亞磷酸鹽(phosphite)或甲基磷酸醯胺酸(methylphosphonamidite)類化合物，若是製備寡核苷酸微陣列(oligonucleotide microarray)的話，在核苷酸的5'或3'端必須接上保護基以防止同一層的核苷酸結合在一起。

要產生液滴小的微陣列生物晶片，其中核苷酸溶液本身的表面張力、黏度及微注射孔的大小是主要決定因子，通常一般液滴大小約為 $25\sim250\text{ }\mu\text{m}$ 。

若是以熱氣泡式微注射器來製備核苷酸微陣列的話，則必須更考慮到核苷酸溶液中溶劑的選擇以及溶劑的黏度。一般來說，液滴愈小則愈容易揮發，因此，通常所使用的溶劑中必須至少含有一種高沸點溶劑，例如沸點大於 140°C 者，來防止核酸溶液的揮發。所選擇的溶劑以極性非質子溶劑較為適合，常用的有如雙腈類(dinitriles)、單腈類(mononitriles)、直鏈聚醚類(glymes)、雙直鏈聚醚類(diglymes)、三直鏈聚醚類(triglymes)、三甲基磷酸鹽(trimethylphosphates)、二甲基甲醯胺(dimethylformamides, DMF)和N-甲基吡咯烷酮(N-methyl pyrrolidinone, NMP)等。

於製備寡核苷酸微陣列(oligonucleotide



五、發明說明 (8)

microarray) 晶片時，利用微注射器將各個受保護的核苷酸(protected nucleotides)有如堆積木的方式依序地固定於基材上，在核苷酸上接的保護基是用來預防每一層的核苷酸彼此重疊在一起。當第一層的核苷酸溶液固定上去之後，利用酸性溶液將核苷酸上的保護基去除，然後再固定上第二層的核苷酸，以此類推可快速地製備出所要的生物晶片，此種方法在核苷酸探針的設計上較有彈性。若是製備DNA、RNA或蛋白質晶片時，則直接將已合成好之去氧核糖核酸(DNA)、核糖核酸(RNA)或蛋白質直接噴灑於基材的小隔間中。而製備勝肽(peptides)晶片時則如同核苷酸微陣列方式將勝肽一個一個接上去。

最後將欲偵測的樣品與上述製備好之生物晶片進行雜交作用(hybridization)，之後再由樣品中標的物(target)上之標幟物(label)進行不同反應，例如螢光、放射物質、酵素呈色等方式，進行電腦掃描以及資料分析。

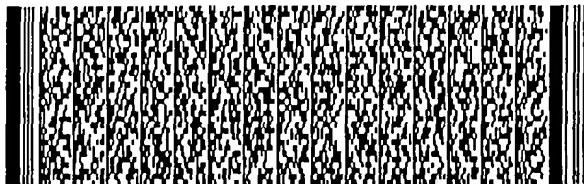
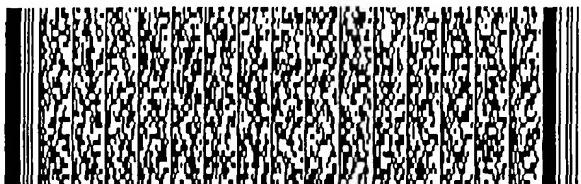
實施例

以下將以實施例具體說明本發明，然本發明之範疇並不限於實施例所列示之範圍。

實施例1：第一種以熱氣泡式微注射器進行批次式寡核苷酸微陣列(oligonucleotide microarray)的製備方法。

1. 以微注射器在玻璃表面形成小隔間

以玻璃為基材，先在玻璃表面以含有疏水性物質，如



五、發明說明 (9)

鐵氟龍(Teflon)，的熱氣泡式微注射器直接、規律地噴灑疏水性物質，以形成疏水性物質區隔而出的方形小隔間，如第2A圖所示。其中隔間的寬度範圍約為 $50\text{ }\mu\text{m}$ ，而疏水性物質噴灑的厚度為 $2\text{ }\mu\text{m}$ ，寬度為 $5\text{ }\mu\text{m}$ 。

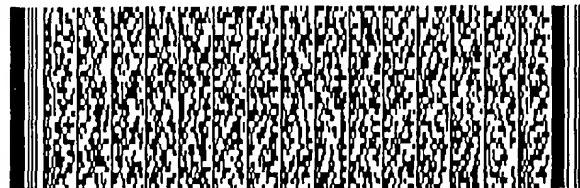
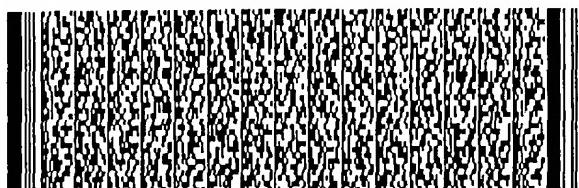
2. 於小隔間中進行親水性處理

在疏水性區隔出的方形小隔間中，以含有三氯矽烷(octyltrichlorosilane)的微注射器，進行矽烷化(silanization)處理，使小隔間區域成為親水性區，其表面具有氫硫基(-SH)得以與核甘酸探針結合，詳細方法如美國專利第6,159,695號，可以形成一永久性的硫醚鍵結或是一化學選擇可逆性的雙硫鍵至親水性區表面的氫硫鍵。

3. 使寡核苷酸結合於微陣列上

將含有四唑(tetrazole)活化劑的二甲氧基三苄基核苷酸磷醯胺酸溶液(DMTr-nucleotide phosphoramidite)以微注射器噴灑於已矽烷化處理的親水性區上，第一層核苷酸會與親水性區上的硫氫基(-SH)結合。然後利用酸性溶液，如三氯醋酸(trichloroacetic acid)或鹽酸(HCl)溶液將保護基去除，再噴灑第二層核苷酸。以上述程序依序接上各個核苷酸，最後可得到寡核苷酸微陣列(oligonucleotide microarray)，詳細的步驟可參考美國專利第6,184,347 B1號、第5,985,551號，在此不再贅述。

4. 以得到的寡核苷酸微陣列進行雜交反應



五、發明說明 (10)

(hybridization)

最後將欲偵測的目標核苷酸序列(target)與上述之寡核甘酸微陣列進行雜交反應，然後藉由目標核苷酸(target)上的標的物(Label)，即可得知目標核苷酸(target)的序列為何，詳細做法可參考美國專利第5,985,551號。

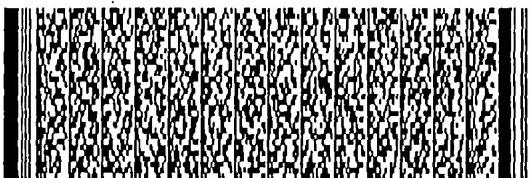
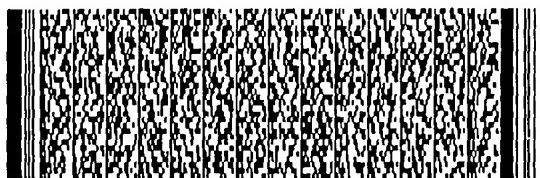
實施例2：第二種批次式寡核苷酸微陣列的製備方法。

寡核苷酸微陣列(oligonucleotide microarray)的隔間形狀亦可以為圓形，如第2B圖所示。可直接以微注射器噴灑疏水性物質形成圓形的隔間。或是先做一相對應之圓形板子罩在基材上，然後以微注射器噴灑疏水性物質，隨後拿掉圓形板子，最後可得到圓形的隔間。其中圓形板子材料以親水性物質為佳，例如尼龍膜等。之後的製程與實施例1相同。

實施例3：以壓電式微注射器進行蛋白質晶片(Protein chip)的製備方法。

1. 以微注射器在玻璃表面形成疏水性隔間

以玻璃為基材，先在玻璃表面以含有疏水性物質，如聚醯亞胺(polyimide)，之壓電式微注射器直接、規律地噴灑疏水性物質，用以形成方形疏水性隔間，如第2A圖所示，其中隔間的寬度範圍約為 $50\text{ }\mu\text{m}$ ，而疏水性物質噴灑的厚度為 $2\text{ }\mu\text{m}$ ，寬度為 $5\text{ }\mu\text{m}$ 。



五、發明說明 (11)

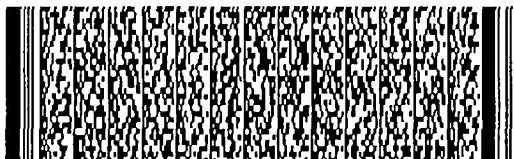
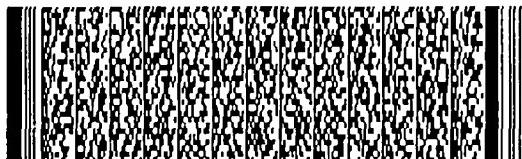
2. 使蛋白質結合於微陣列片上

以三氯矽烷(octyltrichlorosilane)，使疏水性物質所隔出的方形小隔間表面修飾成具有氨基(-SH)，使得蛋白質探針可以結合於其上。蛋白質探針與基材的結合方法可參考美國專利第6,225,047 B1號，在此不再贅述。

3. 以蛋白質晶片進行偵測標的蛋白的試驗

當上述蛋白質晶片製備好之後，將蛋白質樣品(sample)加入晶片上的小隔間中，藉由樣品上的螢光標的物(Cy3, Cy5)可得知樣品中含有何種蛋白質。

雖然本發明已以較佳實施例揭露如上，然其並非用以限定本發明，任何熟悉此技藝者，在不脫離本發明之精神和範圍外，當可作各種之更動與潤飾，因此本發明之保護範圍，當視後附之申請專利範圍所界定者為準。



圖式簡單說明

為了讓本發明之上述和其他目的、特徵，以及優點能更明顯易懂，下文特舉較佳實施例並配合所附圖示，作詳細說明如下：

圖式簡單說明

第1A圖至第1B圖為顯示本發明以微注射器將疏水性物質噴灑於基材上之示意圖。第1A圖顯示利用微注射器可以垂直方向噴灑疏水性物質至基材表面；第1B圖顯示利用微注射器可以水平方向噴灑疏水性物質至基材表面。

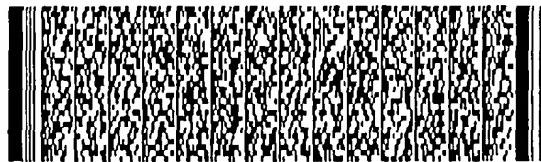
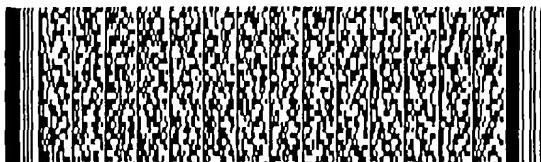
第2A圖至第2B圖顯示本發明利用微注射器噴灑疏水性物質至基材表面後，在基材表面形成小隔間的可能形狀。第2A圖顯示方形的小隔間；第2B圖顯示圓形的小隔間。

第3圖顯示本發明之基材表面疏水性物質分布以及探針液滴覆蓋情形之剖面圖。

第4A圖至第4D圖顯示本發明以疏水性物質區隔出之小隔間後，固定核酸探針至基材之示意圖。第4A圖顯示以微注射器將帶有保護基的核苷酸溶液滴入不同的小隔間（親水性區）；第4B圖顯示以酸性溶液將保護基去除；第4C圖顯示以微注射器將第2層帶有保護基的核苷酸溶液滴入不同的小隔間（親水性區）；以及第4D圖顯示製備完成之生物晶片。

第5圖係本發明最佳實施例所採用之熱氣泡式微注射器之構造圖。

第6A圖-第6D圖係第5圖之微注射器的操作示意圖，第



圖式簡單說明

6A 圖為微注射器之橫截面圖，第6B 圖為形成第一氣泡之情形，第6C 圖為接著形成第二氣泡，使二氣泡結合而擠出液滴的情形，第6D 圖為兩氣泡消失使多餘液體流回液體槽之情形。

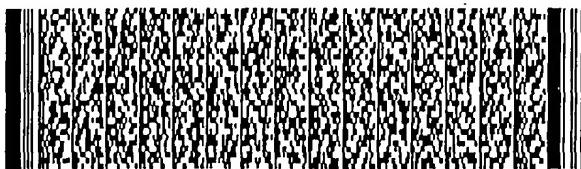
符號之說明

第1~4D 圖之符號：

- 10~ 微注射器；
- 12~ 疏水性物質；
- 14~ 微注射器移動方向；
- 16~ 基材；
- 18~ 疏水性區；
- 20~ 小隔間；
- 21~ 親水性區；
- 22~ 核酸液滴；
- 24~ 帶有保護基之核苷酸液滴；
- 26~ 保護基；
- 28~ 酸性溶液；

第5~6D 圖之符號：

- 1~ 噴墨孔；
- 2~ 第一加熱器；
- 3~ 第二加熱器；
- 4~ 電極；
- 5~ 槽室；



圖式簡單說明

- 6~微管道；
- 7~液體；
- 8~晶圓片；
- a~第一氣泡；
- b~第二氣泡；
- P~氣泡擴大方向；
- F~液滴噴出方向。



六、申請專利範圍

1. 一種生物晶片之製備方法，包括下列步驟：

(a) 提供一基材；

(b) 以微注射方式將一疏水性物質噴灑於該基材上，於該基材表面形成一疏水性區，並由該疏水性區區隔出複數個小隔間；以及

(c) 以微注射方式將一探針固定於該小隔間。

2. 如申請專利範圍第1項所述之生物晶片之製備方法，其中該疏水性物質包括聚四氟乙稀(Teflon)、聚醯亞胺(polyimide)、含矽及含氟潑水劑、以及含氟或含矽化合物。

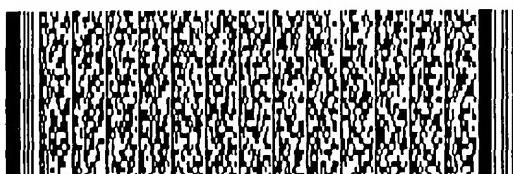
3. 如申請專利範圍第1項所述之生物晶片之製備方法，其中該微注射方式係採用一微注射器，以垂直、水平或任意方向，單向或雙向噴灑。

4. 如申請專利範圍第3項所述之生物晶片之製備方法，其中該微注射器包含熱氣泡式微注射器或壓電式微注射器。

5. 如申請專利範圍第1項所述之生物晶片之製備方法，其中該基材為一疏水性基材，可由下列任一材料組成：玻璃、矽晶片、^或石英、^或聚四氟乙稀(Nylon resin)、雲母、陶瓷材料或金屬材質。

6. 如申請專利範圍第5項所述之生物晶片之製備方法，於步驟(b)之後，更包含一步驟(d)，將每一小隔間內進行一親水性處理，使每一小隔間之表面具有一親水性官能基。

7. 如申請專利範圍第6項所述之生物晶片之製備方



六、申請專利範圍

法，其中該親水性官能基包括胺基(-NH₂)、羧基(-COOH)、硫基(-SH)或是鍊卵白素(Streptavidin)。

8. 如申請專利範圍第1項所述之生物晶片之製備方法，其中該基材為一親水性基材，可由下列任一材料組成：聚苯乙烯、聚酯、聚碳酸鹽、聚氯化乙烯、聚乙烯、聚丙烯、聚礦、聚氨基甲酸酯或聚甲烯順丁烯二酸酐。

9. 如申請專利範圍第8項所述之生物晶片之製備方法，更包含下列步驟：

(e) 於步驟(a)之後，在該親水性基板表面進行一疏水性處理，使該基材表面處理成疏水性；以及

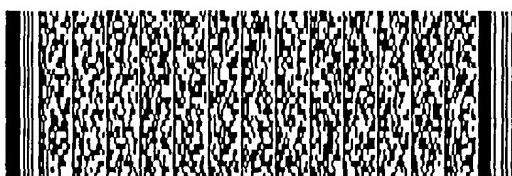
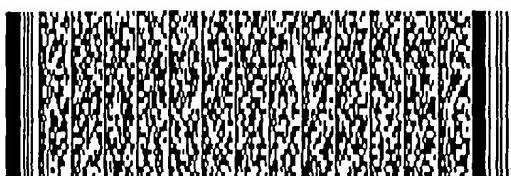
(f) 於步驟(b)之後，於每一小隔間內進行一親水性處理，使每一小隔間表面具有一親水性官能基。

10. 如申請專利範圍第9項所述之生物晶片之製備方法，其中該親水性官能基包括胺基(-NH₂)、羧基(-COOH)、硫基(-SH)或是鍊卵白素(Streptavidin)。

11. 如申請專利範圍第1項所述之生物晶片之製備方法，其中該小隔間的形狀包括方形、圓形或其他幾何圖形。

12. 如申請專利範圍第1項所述之生物晶片之製備方法，其中該探針包括去氧核糖核酸(DNA)、核糖核酸(RNA)、核苷酸(Nucleotides)、寡核苷酸(Oligoucleotides)、蛋白質(Protein)、抗體(Antibodies)或胜肽(Peptides)。

13. 如申請專利範圍第1項所述之生物晶片之製備方



六、申請專利範圍

法，其中該探針固定於該小隔間係經由一官能基結合方式。

14. 如申請專利範圍第13項所述之生物晶片之製備方法，其中該官能基結合方式包括吸附(adsorption)法、共價結合法(covalent binding)、包覆法(encapsulation)、交聯法(cross-linking)或包埋法(entrapment)。

15. 如申請專利範圍第1項所述之生物晶片之製備方法，其中該微注射方式係應用一熱氣泡式微注射器，該熱氣泡式微注射器包括：

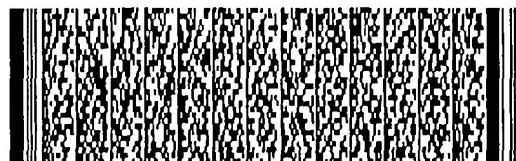
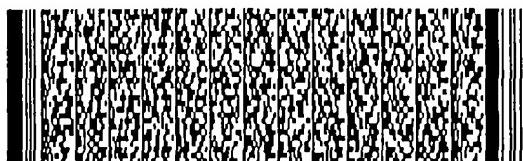
一槽室，用以放置液體；

一微注射孔，位於槽室上，可使槽室中的液體流出；
以及

一第一加熱器與一第二加熱器，分別排列於該微注射孔的兩側；當該槽室裝滿液體時，該第一加熱器會產生一第一氣泡，該第二加熱器會產生一第二氣泡，利用兩氣泡將液體切斷噴出。

16. 如申請專利範圍第15項所述之生物晶片之製備方法，其中該第一加熱器與該第二加熱器係由一共同訊號所驅動。

17. 如申請專利範圍第15項所述之生物晶片之製備方法，其中第一氣泡之產生係作為一閥門，限制該槽室中的液體流出。



六、申請專利範圍

18. 一種生物晶片，其包括：

(i) 一基材；

(ii) 一疏水性區與複數個疏水性區所區隔出之小隔間，位於基材上，其中該疏水性區係由微注射方式噴灑一疏水性物質所形成；以及

(iii) 一探針，係以微注射方式固定於該小隔間上。

19. 如申請專利範圍第18項所述之生物晶片，其中該基材為一疏水性基材，可由下列任一材料組成：玻璃、矽晶片、石英、雲母、陶瓷材料或金屬材質。

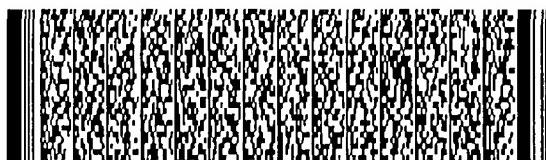
20. 如申請專利範圍第19項所述之生物晶片，其中每一小隔間內之疏水性基材表面，經過一親水性處理後，該基材表面具有一親水性官能基。

21. 如申請專利範圍第20項所述之生物晶片，其中該親水性官能基包括胺基($-NH_2$)、羧基($-COOH$)、硫基($-SH$)或是鍊卵白素(Streptavidin)。

22. 如申請專利範圍第21項所述之生物晶片，其中該基材為一親水性基材，可由下列任一材料組成：聚苯乙烯、聚酯、聚碳酸鹽、聚氯化乙烯、聚乙烯、聚丙烯、聚礦、聚氨基甲酸酯或聚甲烯順丁烯二酸酐。

23. 如申請專利範圍第20項所述之生物晶片，其中形成該複數個小隔間之前，於該親水性基板上更進行一疏水性前處理，使該基材表面處理成疏水性。

24. 如申請專利範圍第23項所述之生物晶片，其中於該小隔間形成後，更進行一親水性處理，使該小隔間表面



六、申請專利範圍

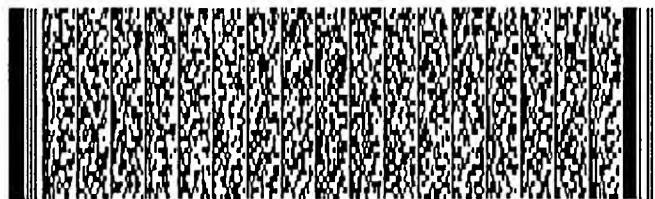
具有一親水性官能基。

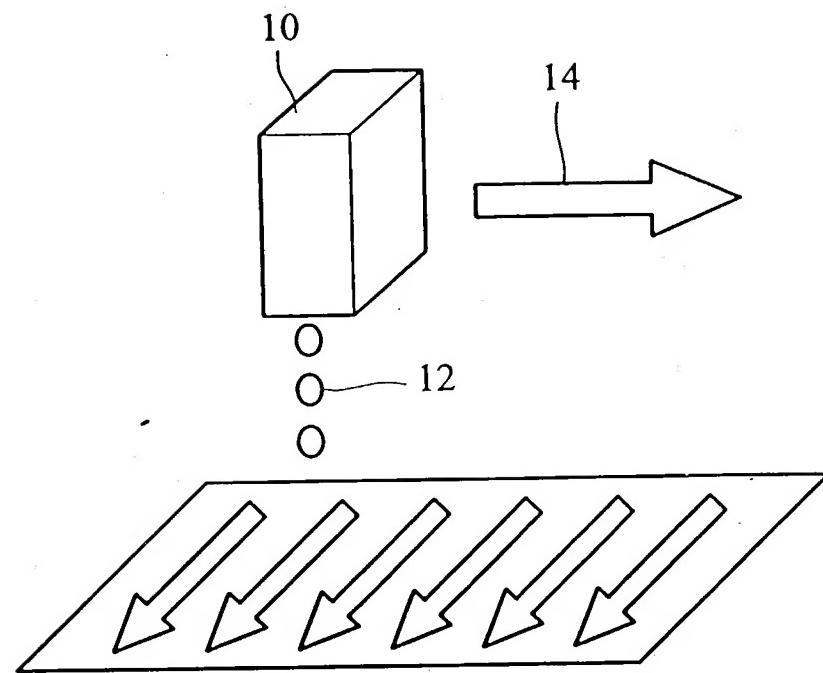
25. 如申請專利範圍第24項所述之生物晶片，其中該親水性官能基包括胺基(-NH₂)、羧基(-COOH)、硫基(-SH)或是鍊卵白素(Streptavidin)。

26. 如申請專利範圍第18項所述之生物晶片，其中該疏水性物質包括聚四氟乙烯(Teflon)、聚醯亞胺(polyimide)、含矽及含氟潑水劑、或是含氟及含矽化合物。

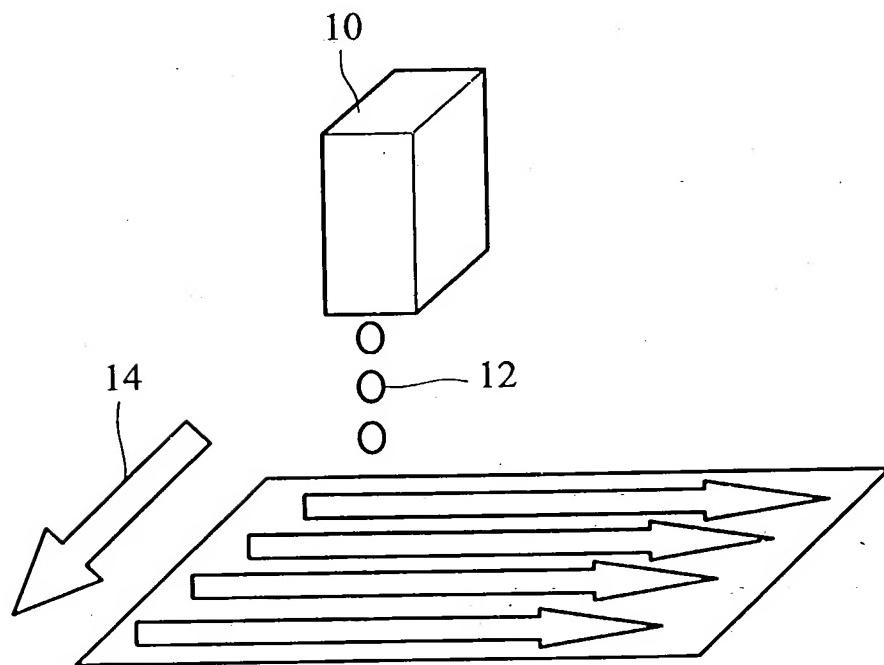
27. 如申請專利範圍第18項所述之生物晶片，其中該探針包括去氧核糖核酸(DNA)、核糖核酸(RNA)、核苷酸(Nucleotides)、寡核苷酸(Oligonucleotides)、蛋白質(Protein)、抗體(Antibodies)或胜肽(Peptides)。

28. 如申請專利範圍第18項所述之生物晶片，其中該探針係以下列方式之一種固定於該小隔間上：吸附(adsorption)法、共價結合法(covalent binding)、包覆法(encapsulation)、交聯法(cross-linking)或是包埋法(entrapment)。

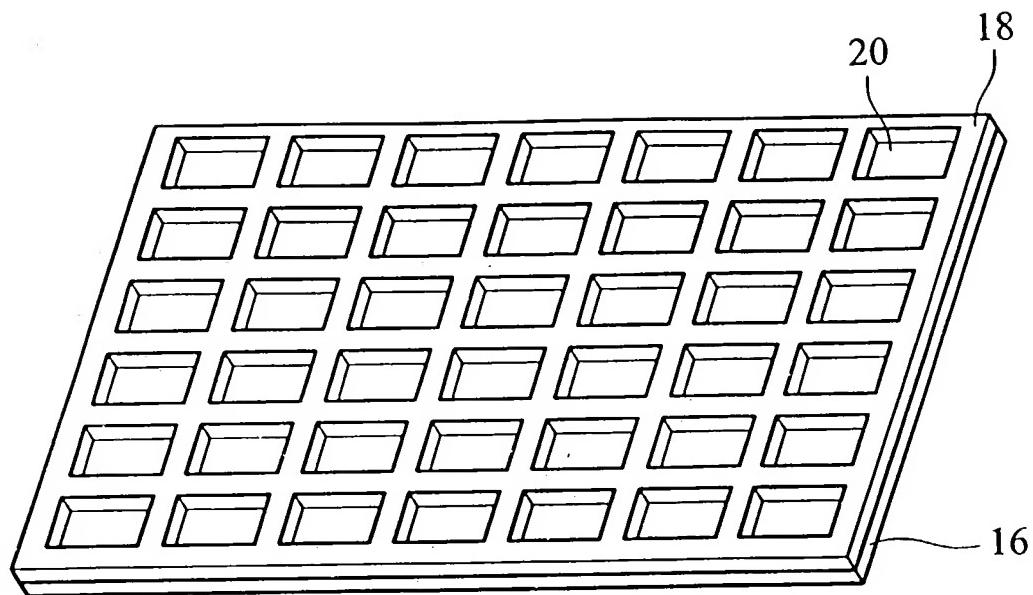




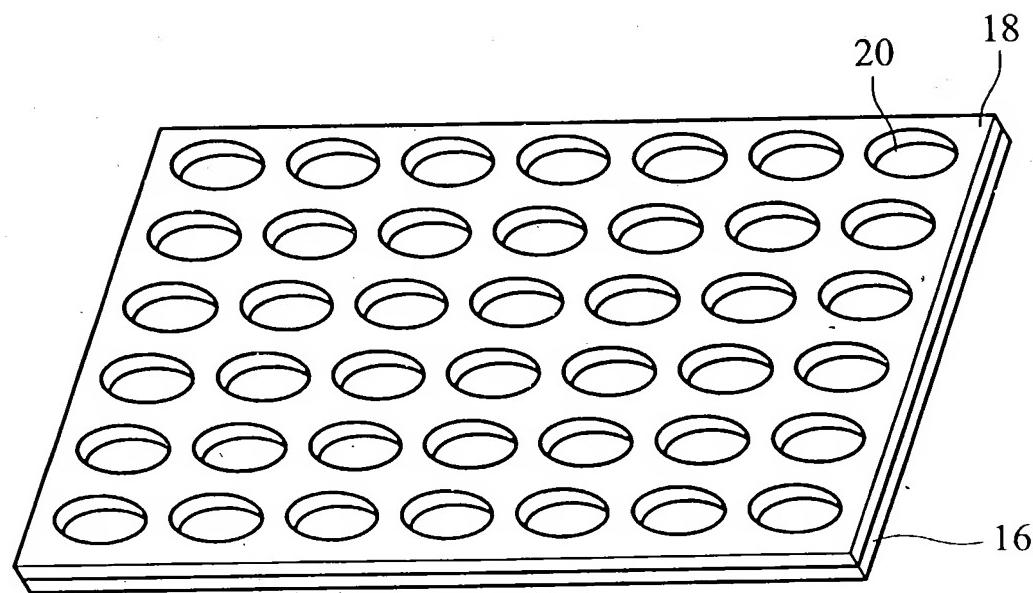
第 1A 圖



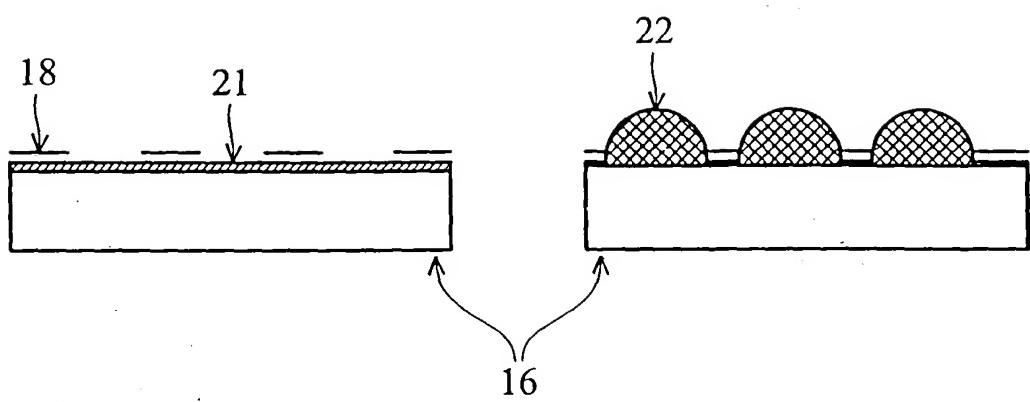
第 1B 圖



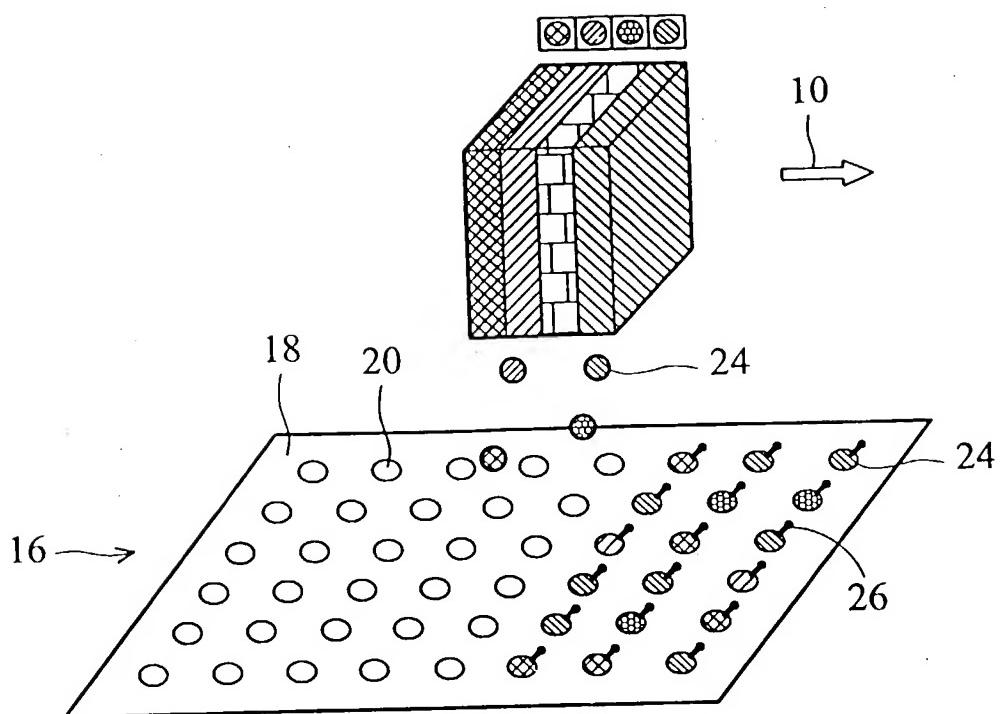
第 2A 圖



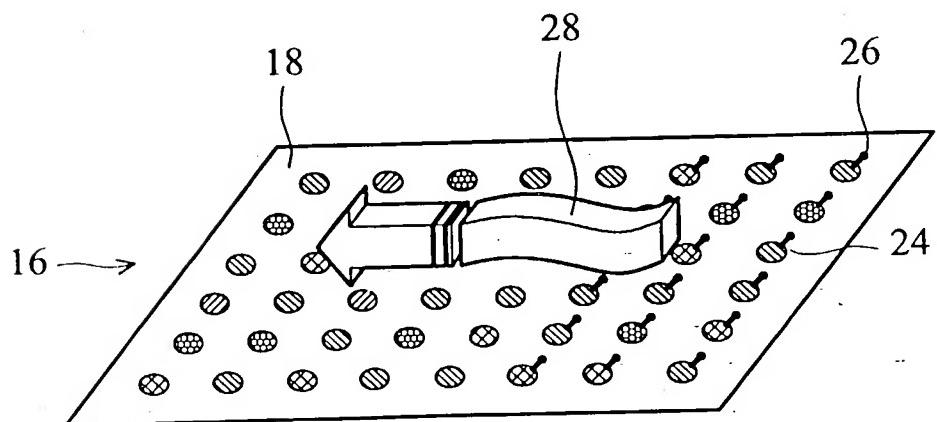
第 2B 圖



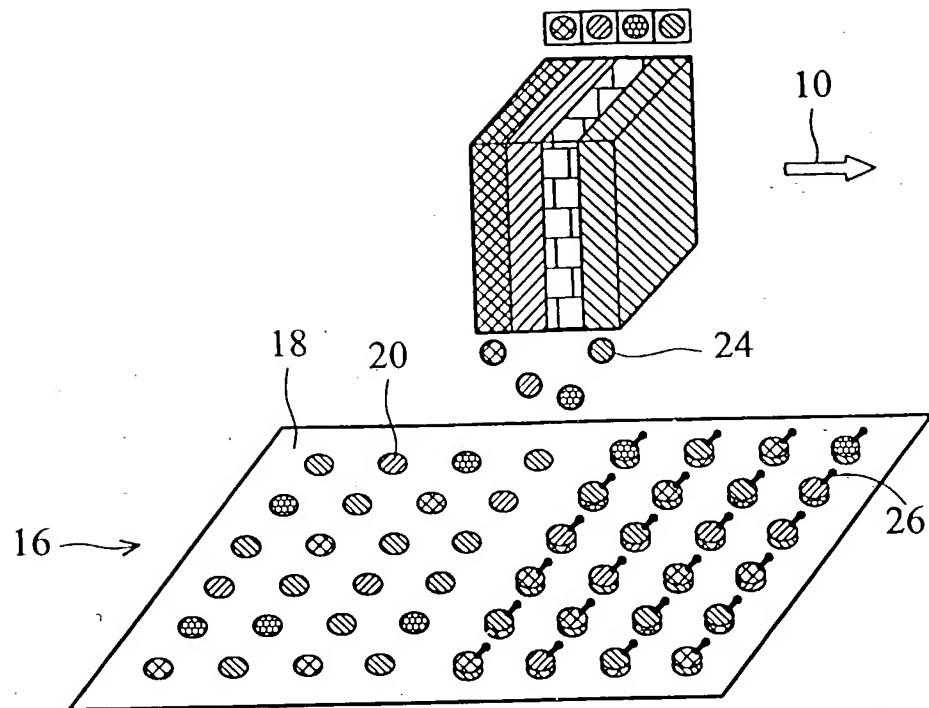
第 3 圖



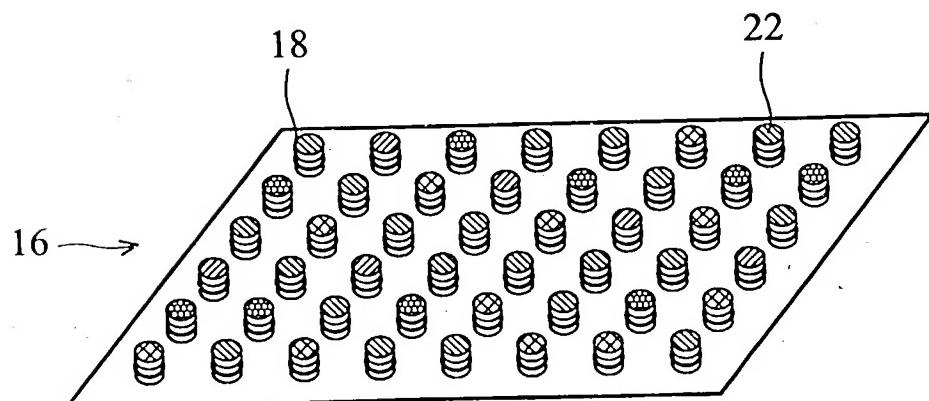
第 4A 圖



第 4B 圖

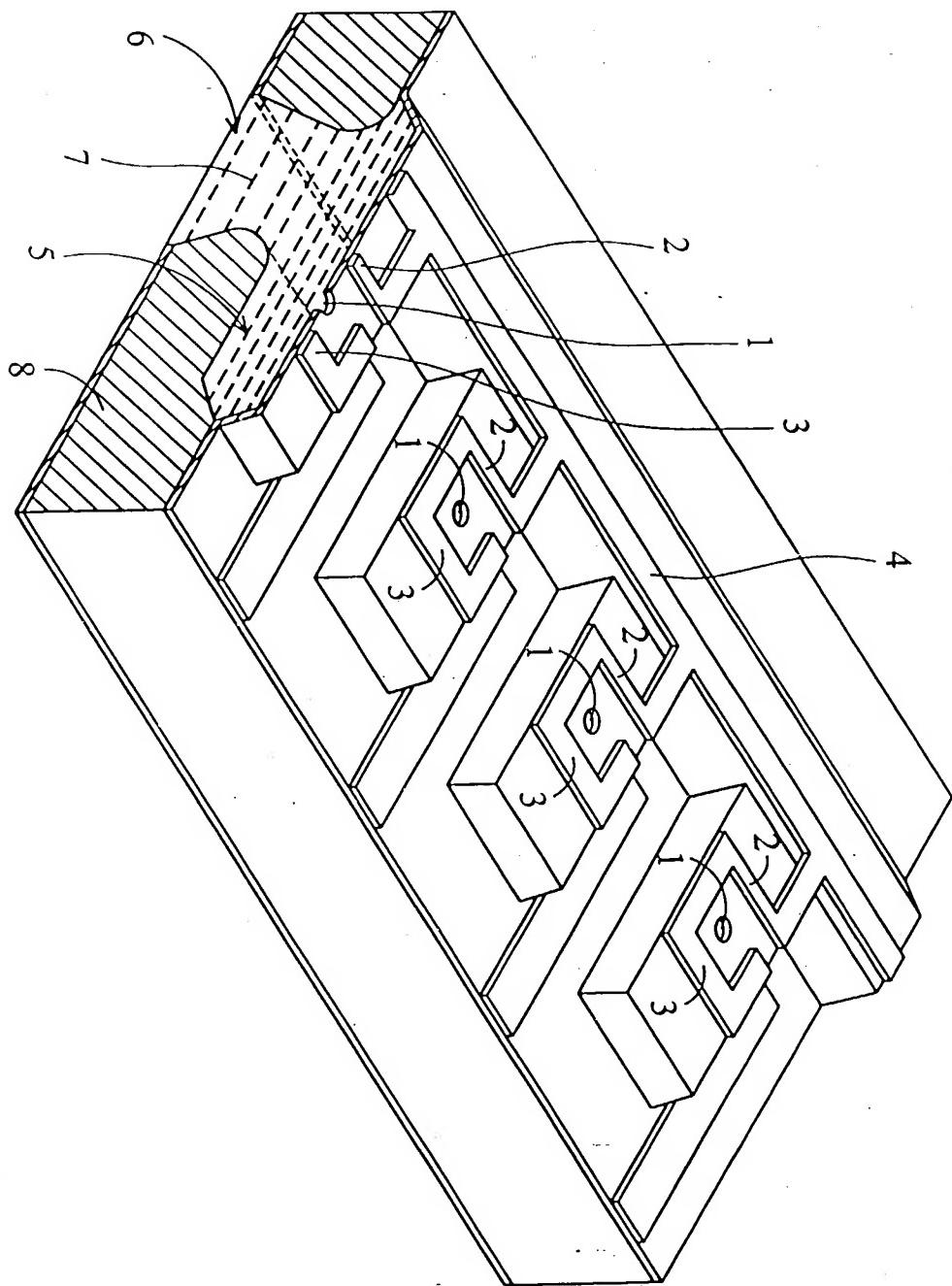


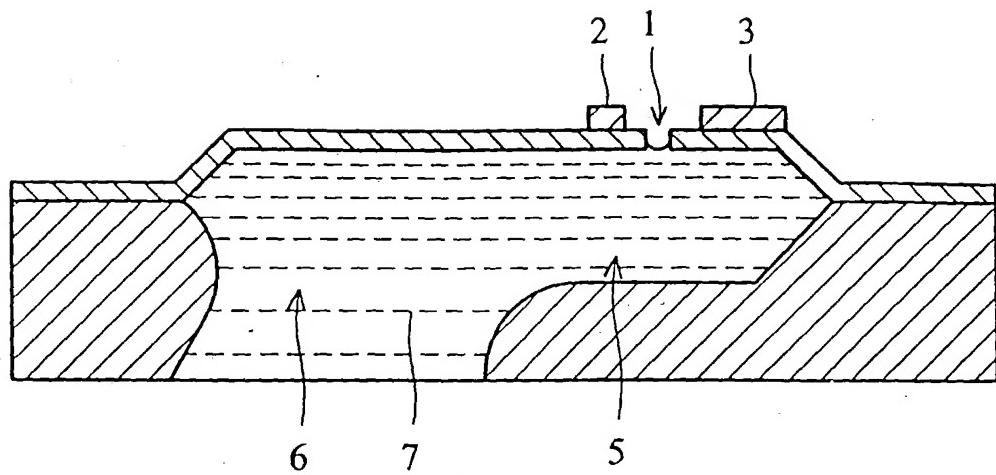
第 4C 圖



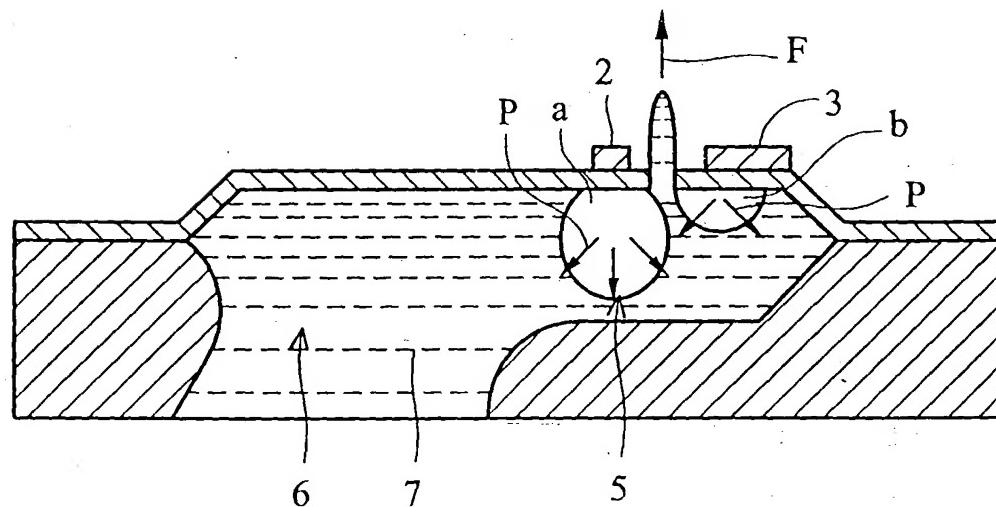
第 4D 圖

第5圖

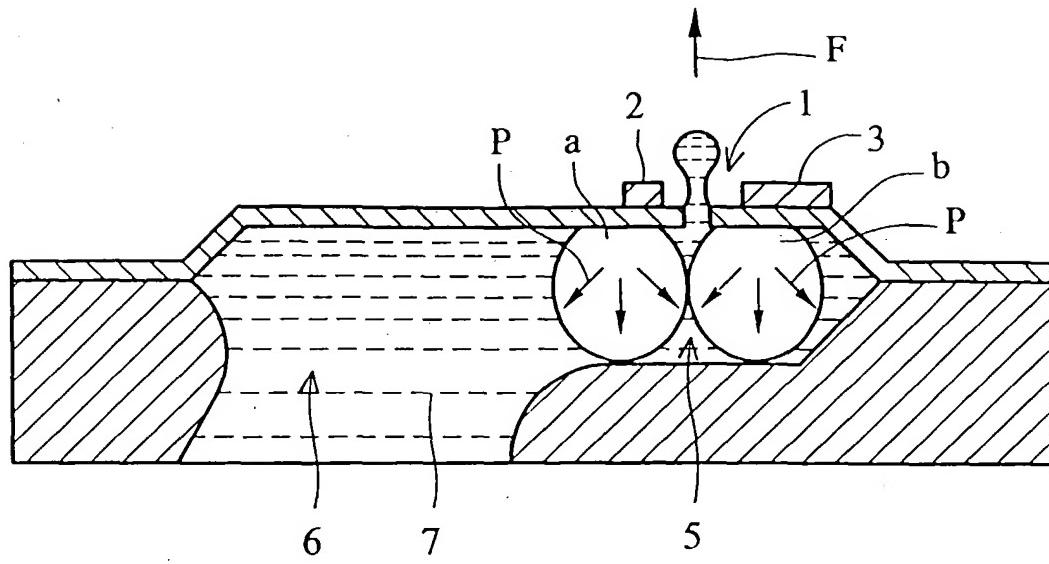




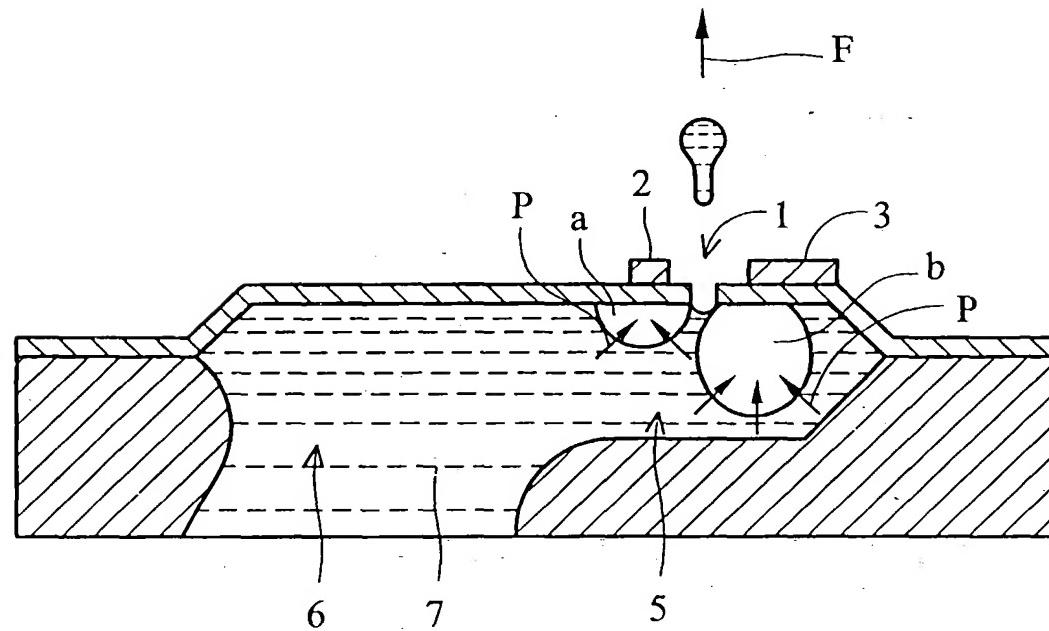
第 6A 圖



第 6B 圖



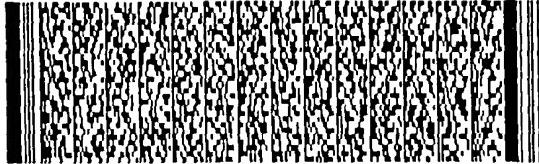
第 6C 圖



第 6D 圖

申請案件名稱:一種生物晶片的製備方法

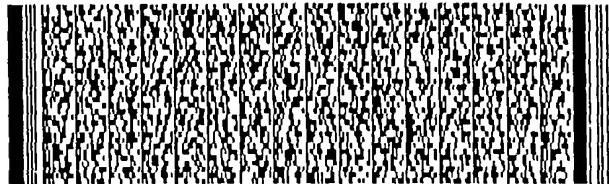
第 1/22 頁



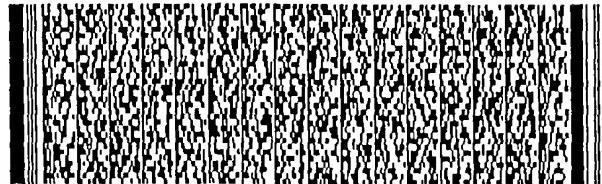
第 2/22 頁



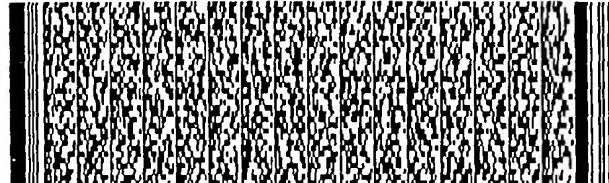
第 4/22 頁



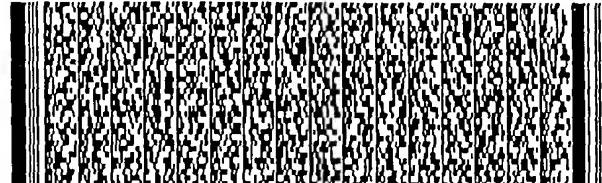
第 4/22 頁



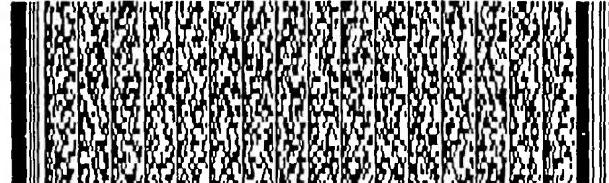
第 5/22 頁



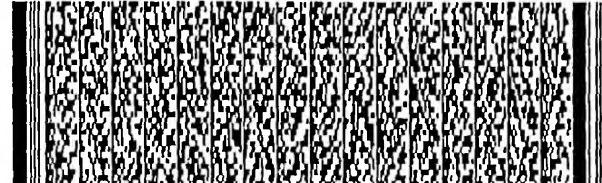
第 5/22 頁



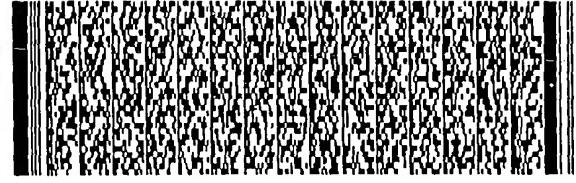
第 6/22 頁



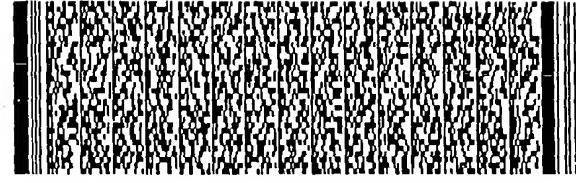
第 6/22 頁



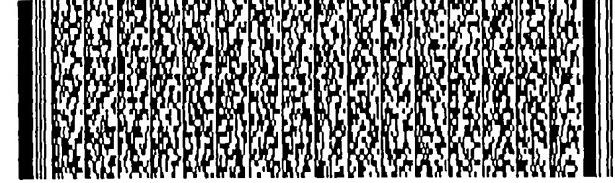
第 7/22 頁



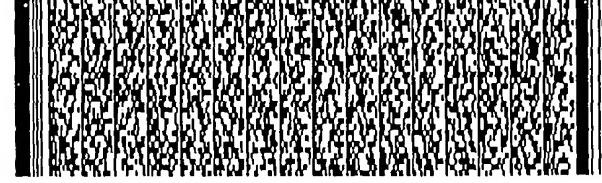
第 7/22 頁



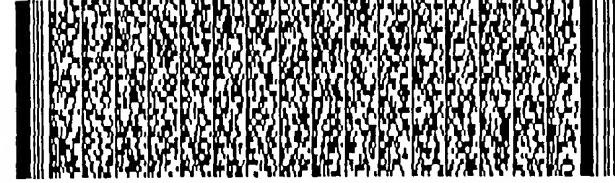
第 8/22 頁



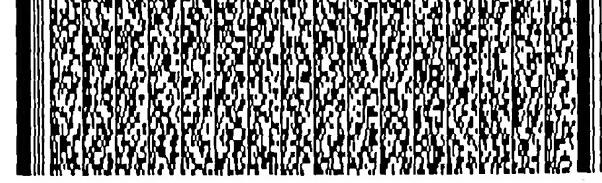
第 8/22 頁



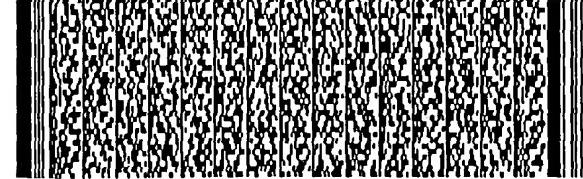
第 9/22 頁



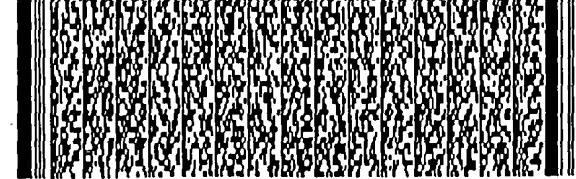
第 9/22 頁



第 10/22 頁

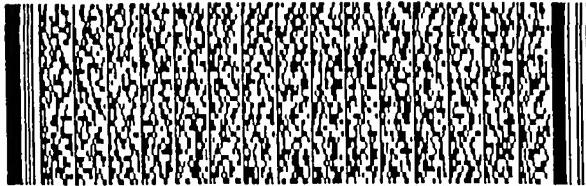


第 10/22 頁

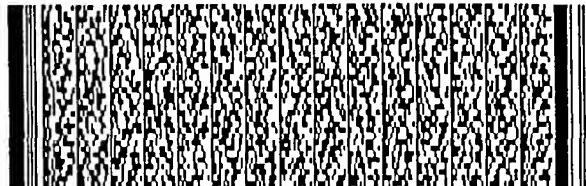


申請案件名稱:一種生物晶片的製備方法

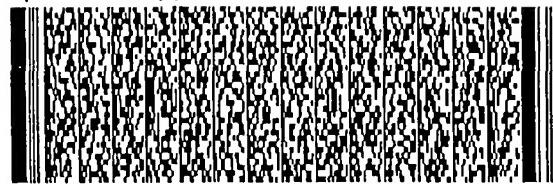
第 11/22 頁



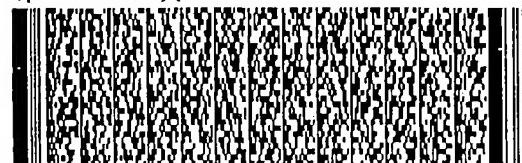
第 12/22 頁



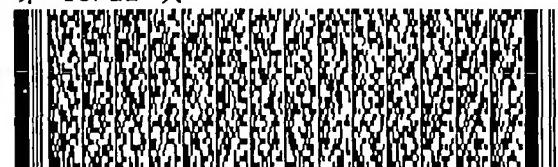
第 13/22 頁



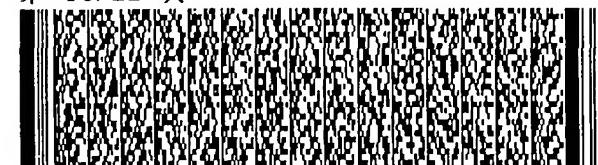
第 14/22 頁



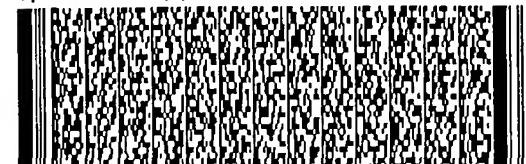
第 15/22 頁



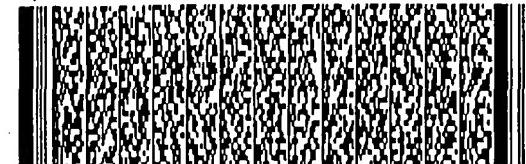
第 16/22 頁



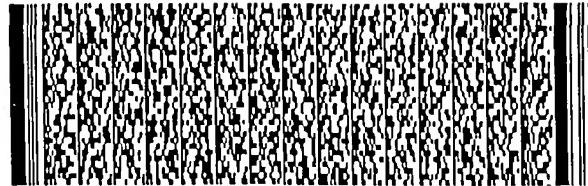
第 18/22 頁



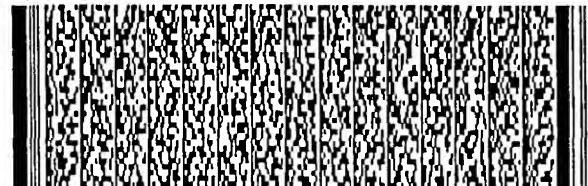
第 19/22 頁



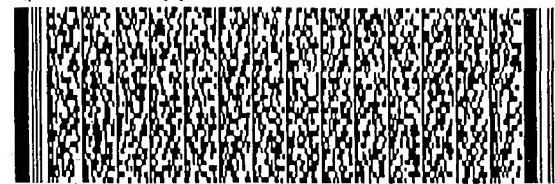
第 11/22 頁



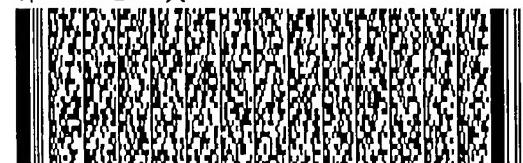
第 12/22 頁



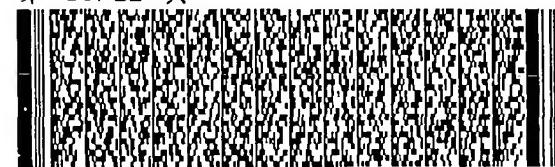
第 13/22 頁



第 14/22 頁



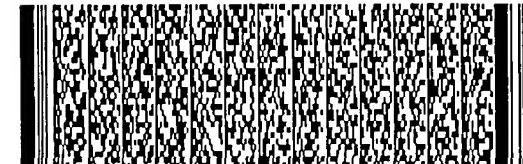
第 15/22 頁



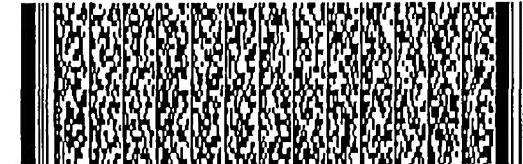
第 17/22 頁



第 18/22 頁

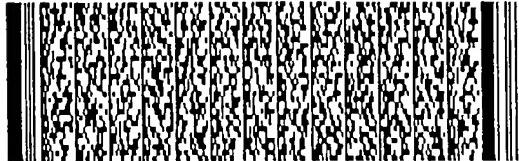


第 19/22 頁

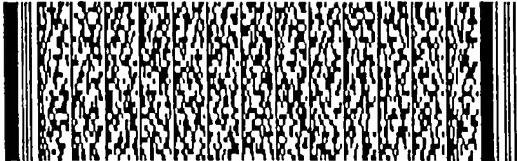


申請案件名稱:一種生物晶片的製備方法

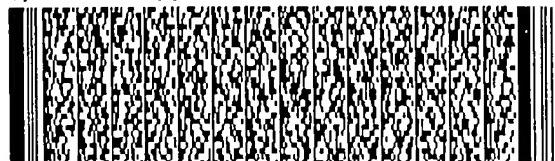
第 20/22 頁



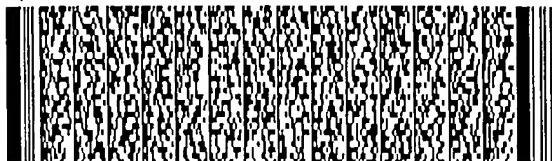
第 20/22 頁



第 21/22 頁



第 21/22 頁



第 22/22 頁

